



プロテオミクス技術によるdysferlin結合タンパク質の探索と細胞膜修復機構に着目したdysferlinopathyの病態解明

著者	小野 洋也
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17397号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00122075

学 位 論 文 要 約

博士論文題目 プロテオミクス技術による dysferlin 結合タンパク質の探索と細胞膜修復機構に着目した dysferlinopathy の病態解明

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻

神経・感覚器病態学講座 神経内科学分野

学籍番号 B3MD5030 氏名 小野 洋也

筋細胞膜タンパク質である dysferlin の欠損は、成人発症の筋ジストロフィーである三好型遠位型ミオパチーと肢帯型筋ジストロフィー2B型を引き起こす。これらは根治療法がいまだない進行性の疾患である。dysferlin 欠損によって筋細胞膜の修復機構が損なわれ、そのため筋細胞の変性、壊死が生じると考えられ、dysferlinopathy と総称される。近年、dysferlin のほかにも筋細胞膜修復に関与する dysferlin 結合タンパク質の存在が徐々に明らかになっている。新規 dysferlin 結合タンパク質の同定が、まだ全容が明らかでない筋細胞膜修復機構の解明、ひいては dysferlinopathy 治療標的の発見に結びつく可能性がある。

dysferlin は、約 230 kDa の大きな膜タンパク質であり、複合体を形成するため、免疫沈降法による結合タンパク質の同定は難しい。そこで本研究では、dysferlin のドメイン構造に着目し、特定領域のアフィニティカラムを作成した。このカラムに細胞抽出物を反応させて相互作用するタンパク質を抽出し、SDS-PAGE により分離して、質量分析にかけることで、複数の結合タンパク質を同定した。

同定した dysferlin 結合タンパク質の一つである AMPK 複合体に注目し、その解析を行った。マウス骨格筋において AMPK 複合体がレーザーによる膜損傷部位に集積し、また培養細胞において AMPK γ 1 と AMPK α 1 の遺伝子発現抑制が筋細胞膜修復機能の低下に繋がることを見出した。また dysferlin 欠損マウス骨格筋のレーザー膜損傷で、AMPK γ 1 の損傷部位への集積が低下することから、膜修復機構において、dysferlin が AMPK γ 1 の局在を規定している (dysferlin が足場タンパク質として機能している) ことを発見した。さらに dysferlin 変異をもつ患者初代培養細胞において、AMPK 活性化剤の投与により膜修復機能が改善することを見出した。AMPK 複合体が、dysferlin とともに骨格筋の膜修復機構において重要な働きを担っているという新たな知見は、dysferlinopathy の治療法開発に結びつく可能性がある。

本研究により巨大なタンパク質である dysferlin の機能ドメインに着目し、プロテオミクスにより結合タンパク質を同定することで dysferlinopathy の治療標的候補として見出し、細胞モデルで検証するというコンセプトを実証することができた。今後は動物モデルを用いた治療応用について検証していきたい。